

(C) WPI / Thomson

AN - 1994-322174 [40]
 AP - JP19930057990 19930224; [Previous Publ JP6247959 A 00000000]
 CN - R04686-P R04686-Q
 CPY - SUNR
 DC - B04 D13 D16 D21
 DCR - [1] 90953 PRD RCT
 DW - 199440; 200421
 IC - C07D311/62; C12P17/06; A23L1/28; A61K7/16; C12N9/99; C12P25/00
 IN - KONYA M; ONO H; TANAKA T
 LNKA- 1994-146649
 M1 - [01] D013 D023 D120 G015 G100 H4 H405 H421 H442 H8 M1 M113 M280 M320
 M423 M511 M520 M531 M540 M720 M800 M903 M904 N152 N513 P616 P912 Q220
 V743 V812; R04686-P R04686-Q
 MC - B04-C03 B06-A01 B14-D06 B14-E11 B14-N06A D03-H01T2 D05-A02A
 PA - (SUNR) SUNTORY LTD
 PN - JP6247959 A 19940906 DW199440
 JP3509891B2 B2 20040322 DW200421
 PR - JP19930057990-19930224
 XIC - C07D-311/62; C12P-017/06; A23L-001/28; A61K-007/16; C12N-009/99;
 C12P-025/00
 AB - Flavonoid polymers with a mol.wt. of 800-5,000 are prepd. by treating
 flavonoids with peroxidase (EC1.11.1.7).
 Pref., the flavonoid polymers are catechins. The polymerisation deg.
 of the flavonoid polymers is 3-10. The glucosyltransferase inhibitors
 having the flavonoid polymers as effective component are prepared by
 treating flavonoids with peroxidase (EC1.11.1.7). The foods are
 polymers of catechins. The foods are dimers of catechins. Prepn. of
 agents for treating dental caries is also claimed.
 - USE/ADVANTAGE :
 The flavonoid polymers are potent glucosyltransferase inhibitors which
 are useful as agents to cure dental caries. The agents can be included
 in various foodstuffs, which then can be employed as being favourable
 material for dental hygiene.
 In an example, a soln. of 1.6 g (+)-catechin (in 5 ml 40% EtOH) and
 155 ml 0.1M pH 6 phosphate buffer was mixed with 10 ml 0.176M H2O2, 20
 ml pH 6 0.1M Phosphate buffer, and 10 ml pH 6 0.1M the same buffer
 contg. 50 micro-g/ml horseradish peroxidase. The whole was kept at
 37[deg]C for 2h to give, after column chromatography on Dia ION HP-20
 in 40% EtOH, 0.5 g a flavonoid polymer.
 ID50 of the flavonoid polymer was 9.0 micro-g/ml when assayed using
 sucrose, dextran, and NaN3, as contrasted to 350 micro-g/ml with
 (+)-catechin.
 INW - KONYA M; ONO H; TANAKA T
 IW - FLAVONOID POLYMER USEFUL GLUCOSYL TRANSFERASE INHIBIT OBTAIN TREAT
 PEROXIDASE
 IWW - FLAVONOID POLYMER USEFUL GLUCOSYL TRANSFERASE INHIBIT OBTAIN TREAT
 PEROXIDASE
 NC - 1
 NPN - 2
 OPD - 1993-02-24
 PAW - (SUNR) SUNTORY LTD

PD - 1994-09-06

TI - Flavonoid polymers useful as glucosyl-transferase inhibitors - obtd.
by treating flavonoid(s) with peroxidase

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平6-247959

(43) 公開日 平成6年(1994)9月6日

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 D 311/62		9360-4C		
A 2 3 L 1/28				
A 6 1 K 7/16		7252-4C		
C 1 2 N 9/99		9359-4B		
C 1 2 P 25/00		8931-4B		
審査請求 未請求 請求項の数12 F D (全 8 頁)				

(21) 出願番号	特願平5-57990	(71) 出願人	000001904 サントリー株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号
(22) 出願日	平成5年(1993)2月24日	(72) 発明者	紺谷 昌仙 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー株式会社生物医学研究所内
		(72) 発明者	小野 裕之 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー株式会社生物医学研究所内
		(72) 発明者	田中 隆治 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー株式会社生物医学研究所内
		(74) 代理人	弁理士 小野 信夫 (外1名)

(54) 【発明の名称】 フラボノイド重合体およびこれを有効成分とするグルコシルトランスフェラーゼ阻害剤

(57) 【要約】 (修正有)

【構成】 フラボノイドをベルオキシダーゼ (E C 1.1 1.1.7) 処理することにより製造される、800-5,000の分子量を有するフラボノイド重合体、フラボノイドのベルオキシダーゼ処理により得られるフラボノイド重合体を有効成分とする抗う蝕剤、口腔衛生剤等のグルコシルトランスフェラーゼ阻害剤および食品並びにフラボノイドをベルオキシダーゼ処理することを特徴とする抗う蝕性物質の製造方法。

【効果】 本発明のフラボノイド重合体は原料フラボノイドの約50倍以上のグルコシルトランスフェラーゼ阻害活性を有するので、これを含むグルコシルトランスフェラーゼ阻害剤はその活性が極めて強く、う蝕の予防等に十分な効果を発揮するものである。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 フラボノイドをベルオキシダーゼ (EC 1.11.1.7) 処理することにより製造される、800～5,000の分子量を有するフラボノイド重合体。

【請求項2】 フラボノイドがカテキン類である請求項第1項記載のフラボノイド重合体。

【請求項3】 重合度が3～10である請求項第1項または第2項記載のフラボノイド重合体。

【請求項4】 フラボノイドをベルオキシダーゼ (EC 1.11.1.7) 処理することにより製造されるフラボノイド重合体を有効成分とするグルコシルトランスフェラーゼ阻害剤。

【請求項5】 フラボノイド重合体がカテキン類の重合体である請求項第4項記載のグルコシルトランスフェラーゼ阻害剤。

【請求項6】 フラボノイド重合体がカテキンの2量体である請求項第4項記載のグルコシルトランスフェラーゼ阻害剤。

【請求項7】 抗う蝕剤として使用されるものである請求項第4項ないし第6項のいずれかの項記載のグルコシルトランスフェラーゼ阻害剤。

【請求項8】 口腔衛生剤として使用されるものである請求項第4項ないし第6項のいずれかの項記載のグルコシルトランスフェラーゼ阻害剤。

【請求項9】 フラボノイドをベルオキシダーゼ (EC 1.11.1.7) 処理することにより製造されるフラボノイド重合体を含有することを特徴とする食品。

【請求項10】 フラボノイド重合体がカテキン類の重合体である請求項第9項記載の食品。

【請求項11】 フラボノイド重合体がカテキンの2量体である請求項第9項または第10項記載の食品。

【請求項12】 フラボノイドをベルオキシダーゼ処理することを特徴とする抗う蝕性物質の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、フラボノイドをベルオキシダーゼ (EC 1.11.1.7) 処理することにより製造されるフラボノイド重合体およびその用途に関し、更に詳細には、当該方法により製造されるフラボノイド重合体、これを有効成分とする抗う蝕剤、口腔衛生剤等のグルコシルトランスフェラーゼ阻害剤並びにこれを含む食品に関する。

【0002】

【従来の技術】 う蝕の原因については過去、種々の仮説が提唱されたが、現在ではミラー (Miller) の化学細菌説に基づく細菌感染症の一種であると認められている。この説に基づいたう蝕の発生機構は以下のごとくである。即ち、口腔連鎖球菌、特にストレプトコッカス・ミュータンス (*Streptococcus mutans*) がグルコシルトランスフェラーゼという酵素を産生する。この酵素は

口中のショ糖を基質として、粘着性、不溶性の多糖 (グルカン) を生成する。このグルカンによって菌体は歯表面に付着して歯垢を形成する。

【0003】 この歯垢中では種々の微生物が共生、繁殖しているが、これら微生物の代謝によって産生される有機酸で歯表面のpHが低下すると、エナメル質表面に脱灰が生じて、う蝕が発生、進行する。また、歯垢形成はう蝕のほかに、歯周病や口臭の原因となるとされている。

【0004】 このようにストレプトコッカス・ミュータンス (以下、「S.ミュータンス」と略称する) を中心とする口腔連鎖球菌によって形成される歯垢がう蝕の原因となっていることから、歯垢形成を抑えることが、ひいてはう蝕の発生を予防する有効な手段となりうる。

【0005】 従来から、う蝕予防の方法として口腔内微生物に対する抗菌剤やショ糖を基質として形成したグルカンを分解する酵素等の抗う蝕物質、更に歯垢形成の基質とならない非う蝕性の糖類について種々の研究がなされている。

【0006】 このうち、抗う蝕物質のひとつとして、植物に含まれるポリフェノール類が近年注目されるに至っている。

【0007】 例えば、特開昭59-152311号公報にはフラバン-3-オール縮合物である縮合型タンニンを配合する口腔用組成物が開示されているが、このタンニンの抗う蝕活性、たとえばグルコシルトランスフェラーゼ阻害活性は十分なものではなかった。

【0008】 一方、フラボノイドの重合体としては、茶の発酵過程で生成するテアフラビンなどの2量体がよく知られているが、これらはポリフェノールオキシダーゼ (EC 1.14.18.1) がカテキン類に作用することにより生成されるものであり、ベルオキシダーゼはそれらの生成になんら関与していない。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】 上記のように、未だ満足すべき効果を有する抗う蝕剤は見いだされていない現状において、十分強力な効果を有し、かつ人体に対して安全性等の面でなんら問題を起こすことのない抗う蝕剤の開発が課題として残されていた。

【0010】

【課題を解決するための手段】 本発明者の一人である小野裕之は、先にウーロン茶抽出物中にグルコシルトランスフェラーゼを強く阻害する成分を見だし、分子量2,000程度の植物ポリフェノールであることを明らかにしている (小野 裕之; 食品工業, 第35巻18号, 34-39頁 (1992))。

【0011】 そして、この植物ポリフェノールの工業的な合成法に関し、鋭意研究を行っていたが、その過程において、偶然にもフラボノイドをベルオキシダーゼで処理することにより得られるフラボノイド重合体は、ウ

ーロン茶抽出物の有効成分であるポリフェノールとは異なるが、それ自身で十分強力な抗う蝕活性を有することを見いだした。

【0012】すなわち、本発明の第一の目的は、フラボノイドをペルオキシダーゼ (EC1.11.1.7) 処理することにより製造される、800-5,000の分子量を有するフラボノイド重合物を提供することである。また、本発明の第二の目的は、フラボノイドをペルオキシダーゼ (EC1.11.1.7) 処理することにより製造されるフラ

ボノイド重合物を含有するグルコシルトランスフェラーゼ阻害剤を提供することである。

【0013】更に、本発明の第三の目的は、上記フラボノイド重合物を含有する食品を提供することである。更にまた、本発明の第四の目的は、フラボノイドをペルオキシダーゼ処理することを特徴とする抗う蝕性物質の製造方法を提供することである。

【0014】本発明のフラボノイド重合物は、常法に従いフラボノイドをペルオキシダーゼ (EC1.11.1.7) 処理することにより製造される。

【0015】この、ペルオキシダーゼ処理により製造されるフラボノイド重合物 (以下、「フラボノイド重合体」という) については、わずかに2量体について知られているのみであり (Klaus Weiniges, Hans Mattauch, Cornelius Wilkins and David Prost; Liebig's Ann. Chem. 754, 124-136 (1971))、しかも該2量体の生理活性については何等教示されていない。そして、分子量が800-5,000のフラボノイド重合体についてはい

ずれも文献未記載であり、新規化合物である。

【0016】フラボノイド重合体の調製に当たり、原料として用いることのできるフラボノイドについては、特に限定はなく、フラボノイド全般を用いることができるが、より好ましくはカテキン類、カルコン類、ジヒドロフラボノール類、フラバノン類、フラボン類、フラボノール類およびイソフラボン類であり、特にカテキン類を好ましく用いることができる。また、茶抽出物等フラボノイドを豊富に含む植物の磨砕物あるいは抽出物そのものを原料としてもかまわない。

【0017】一方、酵素であるペルオキシダーゼに関しても特に限定するものではないが、微生物のアルスロマイセス ラモサス (Arthromyces ramosus) 由来、西洋ワサビ (Horse radish) 由来等を使用することが出来る。

【0018】フラボノイドのペルオキシダーゼ処理は、例えば、過酸化水素存在下、原料フラボノイドをペルオキシダーゼを用いて重合させることにより実施され、重合度の異なる重合物の混合物として得ることが出来る。

【0019】この反応の温度、用いる緩衝液のpHは、使用酵素の至適範囲とするのが好ましい。また、反応時間は1分~24時間の範囲、特に1~3時間が好ましい。

【0020】かくして得られた本発明のフラボノイド重

合物は、ペルオキシダーゼ処理により製造されるものであるのに対し、前記のーロン茶抽出物の有効成分である植物ポリフェノールは茶葉のポリフェノールオキシダーゼの作用と熱処理により生成するものであるから、製造方法が異なり、また、HPLC分析においても保持時間の一致するピークが検出されないことから、両者は物質として異なるものと判断される。

【0021】なお、本発明者の一人である小野裕之ほか2名はカテキン類を加熱処理することを特徴とするカテキン類のグルコシルトランスフェラーゼ阻害活性の増強方法についても鋭意研究を行ない、その成果を特開平3-284671号公報に開示している。

【0022】これによれば、カテキン熱処理によるグルコシルトランスフェラーゼ阻害活性の増強度は約4倍であったが、本発明のペルオキシダーゼ処理による該阻害活性の増強度は、カテキン類の場合、約40倍以上へと飛躍的に向上したので、本発明のフラボノイド重合物は上記方法により生成したものと異なることは明らかである。

【0023】以上のようにして得られた反応生成物はそれ自体で十分なグルコシルトランスフェラーゼ阻害活性を有するが、デベロシル (Develosil) ODS (野村化学) の逆相のカラムを用い、高速液体クロマトグラフィー (以下、「HPLC」という) で分取することにより更に精製され、より強力な該阻害活性を有する物質として得ることが出来る。

【0024】この精製操作において使用する移動相としては、水とメタノール、あるいはアセトニトリルが好ましい。また、系中に残存する反応に使われなかった余剰の過酸化水素は、ダイヤイオン HP-20 (三菱化成工業) 等を用いるカラム処理かHPLC処理により完全に除去できるが、カタラーゼ処理などにより除くこともできる。

【0025】上記の、ペルオキシダーゼ反応生成物あるいはそれをHPLC分取して得た本発明のフラボノイド重合物は、そのままのもの、濃縮したもの、溶剤を除去した乾燥物などいかなる状態のものでも使用することが出来るが、保存性、有機溶剤の安全性の点で乾燥物の状態にするのが好ましい。

【0026】本発明のグルコシルトランスフェラーゼ阻害剤は、上記の様にして得られたフラボノイド重合物を有効成分とし、これを公知の薬学的に許容される担体と組み合わせられることにより調製される。本発明のフラボノイド重合物は強力なグルコシルトランスフェラーゼ阻害活性を有するので、有効量のフラボノイド重合物が存在することにより十分な該阻害活性を示し、過酸化水素が完全に除去されていさえすれば、原料フラボノイドの残存する粗反応生成物、さまざまな重合度のフラボノイド重合物からなる混合物のいずれも有効成分として含有させることができる。もちろん、HPLC分取により

5

純化した本発明のフラボノイド重合物を有効成分として含有させることができる。

【0027】このグルコシルトランスフェラーゼ阻害剤は、主に抗う蝕の目的のための抗う蝕剤、口腔衛生剤とするほか抗真菌などの目的にも用いることができる。

【0028】本発明における抗う蝕剤、口腔衛生剤の例としては、歯磨、洗口液、トローチ等が挙げられる。

【0029】また、本発明のフラボノイド重合物は、抗う蝕を目的として各種食品中に添加することができる。

これらの食品の例としては、ジュース、ガム、飴等が挙げられ、その製造にはその種類に応じて通常使用される適宜な成分を使用することが出来る。

【0030】本発明のフラボノイド重合物は、その原料たるフラボノイドが茶などに含まれることからみて安全性の点では問題ないが、本発明の重合物を口腔用剤、食品などに配合するに際して、味、色、香りなどの点で0.0001-0.5%の濃度範囲が好ましい。

【0031】

【作用及び発明の効果】本発明のフラボノイド重合物は原料フラボノイドの約50倍以上のグルコシルトランスフェラーゼ阻害活性を有するので、これを有効成分として含有する抗う蝕剤等のグルコシルトランスフェラーゼ阻害剤はその活性が極めて強く、う蝕の予防等に十分な効果を発揮するものである。

【0032】特に、本発明のフラボノイド重合物自身には特異な味、におい等がないため、不純物として混在する原料フラボノイドを十分に除いたフラボノイド重合物を有効成分として利用した場合は、任意の量で抗う蝕剤や食品等に配合することが可能であり、きわめて優れたものである。

【0033】

【実施例】次に本発明のフラボノイド重合物の製造法、高活性物質の逆相担体を用いての精製法、グルコシルトランスフェラーゼ阻害活性の検定試験に関する実施例および参考例を挙げて本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれらの実施例等に限定されるものではない。

【0034】実施例 1

フラボノイド重合物の製造：原料である(+) -カテキン1.6gを、5mlの40%(v/v)エタノールに溶解した後、これを0.1Mリン酸緩衝液(pH6.0)155mlに添加、溶解させて得た(+) -カテキン溶液(17.2mM;最終濃度、以下同じ)、0.176M過酸化水素液10ml(8.8mM)、0.1Mリン酸緩衝液(pH6.0)20ml(15.0mM)および1mg/mlの西洋ワサビペルオキシダーゼ(米国、ワーシントン バイオケム(Worthington biochem.)社製)0.1Mリン酸緩衝液(pH6.0)溶液10ml(50μg/ml)を用いた反応系で37℃でペルオキシダーゼ処理を施した。

【0035】2時間反応後、蒸留水(4.8リットル)

6

を加え、これをセライト濾過した。この濾液をダイアイオン HP-20(三菱化成工業)カラムに吸着させ、蒸留水でカラムを洗浄後、吸着成分を40%エタノールで溶出し、この画分を減圧下濃縮し、粉状残査0.5gを得た。

【0036】実施例 2

フラボノイド重合物の精製：実施例1で得られた反応生成物を逆相のデベロシル ODS-10(野村化学)のカラムを用いて水-メタノール系でHPLC分取した。

移動相は30%メタノール水(流速32ml/ml n.)であり、210nmのUVで検出した。HPLC上のメインピークとして4つのピーク(1)(2)(3)(4)を認めた。FAB-MS(高速原子衝撃質量分析計)を用いて、それぞれの分子量を測定したところ、(1)は290、(2)は1440、1152、864の混合物、(3)は864、576の混合物、(4)は576であった。

【0037】このことより、(1)原料の(+) -カテキン、(2)(+) -カテキンの3量体、4量体、5量体からなる混合物(以下、「カテキン-3、4、5-mer」と略す)、(3)(+) -カテキンの2量体および3量体からなる混合物(以下、「カテキン-2、3-mer」と略す)、(4)(+) -カテキンの2量体であると推定された。これらの含量はそれぞれ(1)61.0%、(2)1.0%、(3)9.0%、(4)5.2%であった。

【0038】上記各ピークのうち、(4)のピークを示す物質の構造を、その物理化学的諸性質と本物質のメチル化物の各種スペクトルデータより解析した結果、これはデヒドロージカテキンA(dehydrodicatechin A)(X laus Weiniges, HansMattauch, Cornelius Wilkins and David Frost; Liebigs Ann. Chem. 754,124-136(1971))と同定された。

【0039】カテキン-3、4、5-merのMSおよび¹H-NMRスペクトルを図1および図2に、カテキン-2、3-merのMSおよび¹H-NMRスペクトルを図3および図4に示す。

【0040】なお、ウーロン茶抽出物に見いだされた、グルコシルトランスフェラーゼ阻害活性の強い分子量2,000程度のポリフェノールと保持時間の一致するピークは、実施例1で得られた反応生成物のHPLC分析において見いだされなかった。

【0041】実施例 3

グルコシルトランスフェラーゼ阻害活性の検定：下記方法に従い、本発明フラボノイド重合体のグルコシルトランスフェラーゼ阻害活性を調べた。すなわち、5.0%ショ糖、0.5%デキストランT10および0.5%アジ化ナトリウムを含む500mMリン酸ナトリウム緩衝液(pH6.0)0.6ml、被験試料の水溶液0.15ml、トッド-ヘウィット(Todd-Bewitt)培地で培養

したS.ミュータンスMT8148株から8M尿素で菌体から抽出したグルコシルトランスフェラーゼ酵素液 (S. Hamada et al., J. Gen. Microbiol., 135, 335-344 (1989)) 及び全量 3 ml となる量の水を加えて反応系を作成し、ガラス試験管内で反応させる。この際、酵素量は 37℃、3時間の反応で550の吸光度が約1.0になるように設定する。

【0042】生成した不溶性グルカンを超音波破砕し、550 nmの吸光度 (A) を測定した。また、試料液*

*の代わりに水を用いたときの吸光度をコントロール (B) として、以下の計算式で阻害率 (%) を求めた。

【0043】阻害率 = $(B - A) \times 100 / B$

【0044】比較試料としては、特開昭59-152311号公報の方法に従い調製した、生薬の粗抽出物並びに縮合型タンニンを用いた。以上の方法により求められた阻害率から算出されたグルコシルトランスフェラーゼ阻害活性のID₅₀を第1表に示す。

【0045】

第 1 表

被 検 試 料	グルコシルトランスフェラーゼ 阻害活性 ID ₅₀ (μg/ml)
実施例1の反応生成物	9.0
実施例2の カテキン-3, 4, 5-mer	2.0
実施例2の カテキン-2, 3-mer	6.0
実施例2のカテキン2量体	7.0
(+) -カテキン (対照)	350
(比 較 例)	
局方タンニン酸	60
信州大黃タンニン (分子量 1440-2130)	46
何首烏タンニン (分子量 2340-3110)	143
雅黄タンニン (分子量 540-890)	60

【0046】この結果から明かなように、本発明のフラボノイド重合体のグルコシルトランスフェラーゼ活性は原料フラボノイド (対照) に比べ数十～百数十倍強く、また、縮合型タンニン化合物に比べても数～数十倍強いものであった。

【0047】実施例 4

歯 磨 き 剤：下記組成で常法に従い歯磨き剤を調製した。

40

(組 成)

	重 量 部
第2リン酸カルシウム	42
グリセリン	18
カラギーナン	0.9
ラウリル硫酸ナトリウム	1.2
サッカリンナトリウム	0.09
パラオキシ安息香酸ブチル	0.005
香 料	1
カテキン重合体*	0.05
水	残 量

全 量 100

* 実施例1で得たカテキンの重合反応生成物

【0048】実施例 5

洗 口 液：下記組成で常法に従い洗口剤を調製した。

9

10

(組 成)	重 量 部
ラウリル硫酸ナトリウム	0.8
グリセリン	7
ソルビトール	5
エチルアルコール	15
カテキン重合物**	0.05
1-メントール	0.05
香 料	0.04
サッカリンナトリウム	0.1
水	残 量

量体からなる混合物の質量分析 (MS) スペクトル図。

【図2】 (+) -カテキンの3量体、4量体および5量体からなる混合物の¹H-NMRスペクトル図。

【図3】 (+) -カテキンの2量体および3量体からなる混合物のMSスペクトル図。

【図4】 (+) -カテキンの2量体および3量体からなる混合物の¹H-NMRスペクトル図。

以 上

全 量 100

** 実施例2で得たカテキンの3量体、4量体および5量体からなる混合物。

【0049】実施例6

チューイングガム：下記組成で常法に従いチューイングガムを調製した。

(組 成)	重 量 部	
ガムベース	20	
炭酸カルシウム	2	20
ステビオサイド	0.1	
カテキン重合物***	0.01	
乳 糖	76.89	
香 料	1	

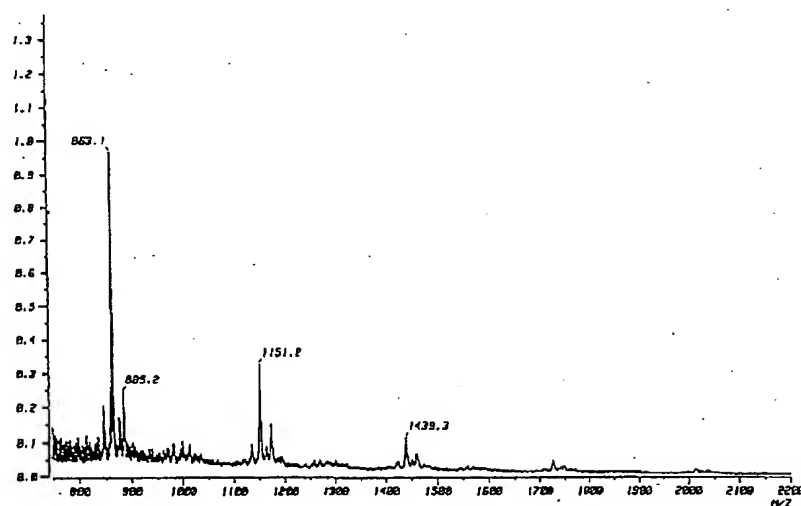
全 量 100

*** 実施例2で得たカテキン2量体。

【図面の簡単な説明】

【図1】 (+) -カテキンの3量体、4量体および5

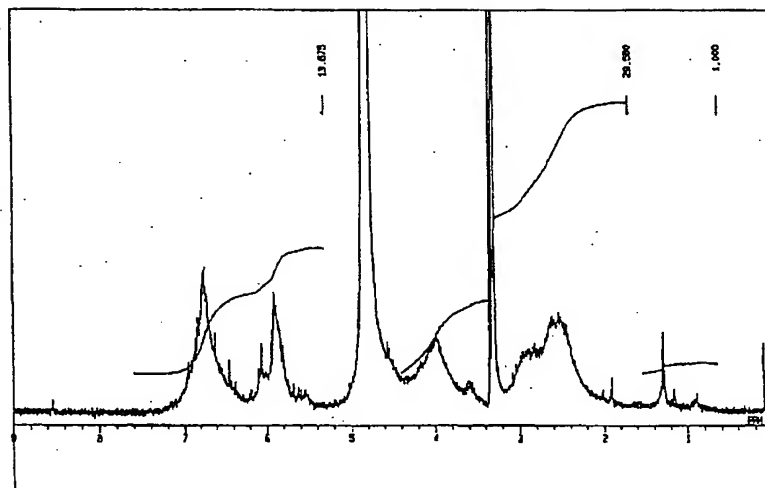
【図1】



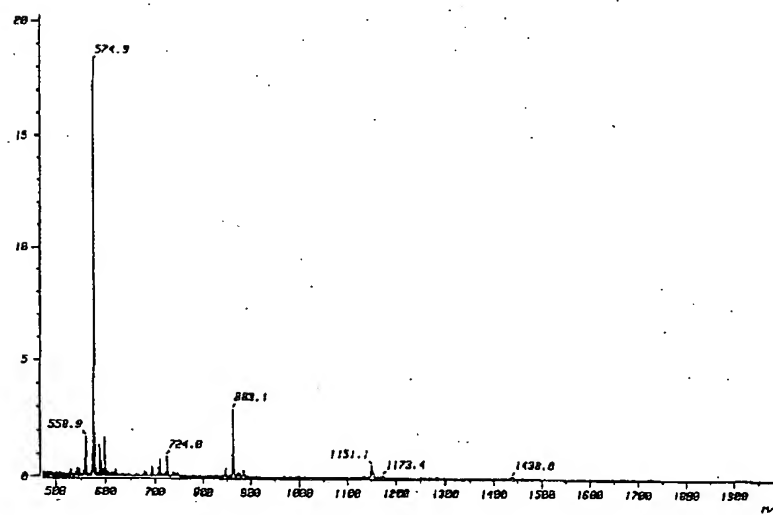
(7)

特開平6-247959

【図2】



【図3】



(8)

特開平6-247959

【図4】

